Nachdruck verboten. Übersetzungsrecht vorbehalten.

Die Reinkultur von Conjugaten.

Von Viktor Czurda (Prag).

(Hierzu 6 Textfiguren und Tafel 9 u. 10.)

Für eine ganze Reihe chlorophyllführender Microorganismen ist die Kultivierbarkeit und die Möglichkeit der Erzielung absoluter Reinkulturen bereits gezeigt worden. Es handelt sich um Vertreter der Protococcalen, Flagellaten, Cyanophyceen, Diatomeen. Als schwer oder gar unkultivierbar galten bis zu den Untersuchungen Prings-HEIM'S (1912, 1918) die Vertreter der Conjugaten. Erst Pringsheim hat gezeigt, daß sich viele Desmidiaceen, Mesotaeniaceen und gewisse Zygnemaceen durchaus sicher kultivieren lassen. Daß seine Angaben tatsächlich recht brauchbare Bedingungen enthalten, beweist am besten die Tatsache, daß seine Algenstämme viele Jahre hindurch erhalten werden konnten. So konnte beispielsweise ein Zugnema-Stamm vom Jahre 1911 bis heute fortgezüchtet werden. Aber Spirogyra, ein so häufiges Untersuchungsobjekt, gilt auch heute noch (Pringsheim 1912, Schramm 1914, Hemleben 1922, Benecke 1925) als unkultivierbar, obwohl es nicht an Versuchen gefehlt hat, jene Kulturbedingungen zu finden, die eine Dauerkultur ermöglichen. Die dauernden Mißerfolge mit anorganischen Lösungen führten manchen, der sich um die Kultur bemühte, sogar zur Annahme, daß zu ihrer Kultur bestimmte organische Stoffe nötig seien.

Wir finden zwar an vielen anderen Stellen der Literatur auch für *Spirogyra* die Angabe, daß sie kultiviert werden konnte [Klebs (1897, p. 232), Gerasimoff (1902, 1904), Strasburger (1921, p. 402), Schneider-Zimmermann (1922, p. 406) u. a.], so daß ein Uneingeweihter

die Kulturfrage als gelöst betrachten könnte. Dem ist aber anders. Wenn wir zunächst von den jüngsten, erfolgreichen Versuchen Uspenski's (1924), die die Dauerkultur aller Spirogyren in den Bereich der Möglichkeit rückten, absehen, so finden wir, daß alle übrigen Autoren den Begriff "kultivierbar" etwas weiter faßten, als es heute bei den gesteigerten Ansprüchen der Methodik zweckmäßig erscheint. Als "kultivierbar" wollen wir einen Organismus erst dann ansehen, wenn es gelungen ist, soweit präzisierbare Wachstumsbedingungen zu finden, daß eine beliebig oft fortsetzbare Aufzucht eines größeren Zellenmaterials aus wenigen, im besten Falle aus einem Individuum, sicher gelingt. Und das war bei Spirogyra wenigstens bisher nicht möglich. Man konnte die Watten nur in wenigstens bisher nicht möglich. Man konnte die Watten nur in größeren Gefäßen (meist Aquarien) mit Standortswasser lebend erhalten, bisweilen auch zur Vermehrung bringen (Klebs, Strasburger, Gerasimoff, Schneider-Zimmermann). Nicht nur die Platzmangelfrage, sondern auch die Unmöglichkeit der Beschaffung von Kulturmedium gleicher Beschaffenheit, die Undurchführbarkeit genauer mikro- und makroskopischer Kontrolle erfordern die Verwendung kleinerer Kulturgefäße mit Lösungen bekannter Zusammensetzung. Wir müssen zunächst also bestrebt sein, die Kultur in kleinen Gefäßen (in den in der Kulturtechnik bewährten Eprouvetten) mit kleinen Flüssigkeits- oder Substratmengen durchführbar zu machen. Weiters muß die Speziesreinheit angestrebt werden. Selbst das

Weiters muß die Speziesreinheit angestrebt werden. Selbst das reinste Rohmaterial eines natürlichen Standortes, das zu verschiedenartigen Untersuchungen bereits gedient hat, birgt noch eine Fülle anderer chlorophyllführender Organismen, die Unklarheiten von Versuchsergebnissen bedingen können.

Schließlich mußte der Versuch unternommen werden, auch Vertreter der Conjugaten in absoluter Reinheit zu züchten. Dies wurde zwar schon versucht (Schramm (1914)) allerdings ohne Erfolg. Der genannte Forscher versuchte von keimfrei gemachten Zygoten (Spirogyra setiformis) zu absoluten Reinkulturen zu gelangen, da ihm wie vorher auch schon Pringsheim (1912) die Gewinnung solcher Kulturen von vegetativen Fäden nicht erfolgreich schien.

TREBOUX (1904) behauptet allerdings, daß er unter den 40 reingezüchteten Algen auch eine Art von Mesocarpus und eine Art von Cosmarium zu seinen Experimenten verwendet hat. Da weder in diesem Bericht noch meines Wissens später geschildert worden ist, wie der Züchtungsvorgang, die Reinigung von Bakterien, die Prüfung auf absolute Reinheit vorgenommen wurde, so ist diese Angabe als völlig unzuverlässig zu betrachten.

Diese Sachlage veranlaßte mich vor drei Jahren, die Kulturmöglichkeit einiger Conjugaten systematisch zu verfolgen. Die Versuche führten bei fünf Vertretern zur Erzielung absoluter Reinkulturen und zu einigen für die Züchtung wichtigen Ergebnissen, die im folgenden beschrieben werden.

Bei meinen Züchtungsversuchen mit Conjugaten erwies sich für kleinzellige Vertreter (Mesotaenium, Closterium, Cosmarium bis zu 60 μ Zellänge, Spirogyra, Mougeotia, Zygnema bis zu 60 μ Zelldicke) ein Agar von folgender Zusammensetzung als geeignet:

Proz. Agar 1.5 Kaliumnitrat 0.020,002 "Kaliumphosphat
0,001 "Magnesiumsulfat
0,0005 "Ferrichlorid oder Ferrosulfat.

Calcium ist in hinreichender Menge im Agar enthalten. Die Nähr-

lösung gleicher Zusammensetzung erwies sich für Zygnemales, solange Bakterien mit vorkamen, nicht verwendbar. Als Nährlösung eignet sich bei diesen Organismen Erddekokt mit etwa 0,02 Proz. Kaliumnitrat.

Die angegebene Salzkombination des Nähragars deckt sich im Prinzip mit der, die sich mit geringen Modifizierungen als Lösung für viele chlorophyllführende Microorganismen als geeignet erwiesen hat.

Molisch (1897) Spirogyra, Vaucheria, Cladophora Oedogonium,

Oscillaria. (Rohkultur.)

Benecke (1908) Spirogyra. (Rohkultur.)

RICHTER (1911) Süßwasserdiatomeen. (Reinkultur.)
PRINGSHEIM (1914) Cyanophyceen. (Reinkultur.)
MAERTENS (1914) Cyanophyceen. (Reinkultur.)

GLADE (1914) Cyanophyceen. (Reinkultur.) HARDER (1917) Cyanophyceen. (Reinkultur.)

USPENSKI (1924) Spirogyra crassa, Volvox. (Rohkultur.) SCHREIBER (1925) Volvocineen. (Reinkultur.)

USPENSKI-USPENSKAJA (1925) Volvox. (Reinkultur.)

Eine Lösung dieser Salze in festem Substrat erwies sich Pringsheim (1918) für die Kultur von Desmidiaceen geeignet.

Das verwendete Wasser war durchwegs zweimal destilliert worden; das zweite Mal aus Jenaer Normalglas durch Platin in Jenaer Normalglas. Für die Züchtung der im folgenden zu behandelnden Arten ist das nicht unbedingt nötig, wenn das einfach destillierte Wasser sorgfältig hergestellt worden ist. Auch das einfach aus Kupferkessel durch Zinnkühler in gewöhnliches Glas destillierte Wasser des hiesigen Instituts eignet sich für Züchtungsversuche vollkommen. Bei der Zubereitung des Nähragars wurden die Nährsalze in der oben angegebenen Konzentration vor dem Aufkochen des gut gewässerten Agars hinzugefügt (vgl. Pringsheim (1921)). Als Nährsalze wurden Kahlbaum- und Merck-Präparate verwendet.

Die Züchtung großzelliger Formen brachte noch nicht den gewünschten Erfolg. Aber die ausgezeichneten Vermehrungsresultate, die Uspenski (1924) 1) an Spirogyra crassa durch besondere Dosierung des Eisens erhalten hat, lassen auch hier auf Erfolg hoffen.

Herkunft und Beschreibung der reingezüchteten Conjugaten.

Von einer größeren Anzahl teils bestimmbarer, teils unbestimmbarer Mesotaenium-, Cosmarium-, Closterium-, Spirogyra-, Zygnemaund Mougeotia-Arten ²) gelang die Erzielung absoluter Reinkulturen bisher bei 5 Vertretern, nämlich

Mesotaenium caldariorum (Lagrh.) Hansgirg, Cosmarium Botrytis Menegh., Zygnema sp., Zygnema peliosporum Wittr. und Spirogyra varians Kütz.

Die folgenden Ausführungen beziehen sich auf die drei Erstgenannten und *Spirogyra varians. Zygnema peliosporum* wurde erst während der Niederschrift des Manuskriptes rein erhalten.

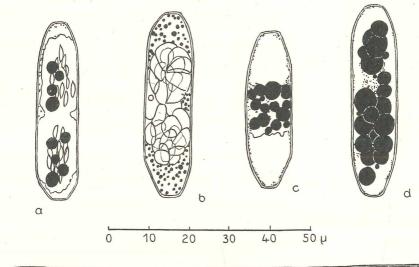
Das Ausgangsmaterial von Mesotaenium, dessen Kultivierbarkeit schon Pringsheim (1918) festgestellt hat, stammte von feuchten Mauerstellen des Hofes Czaskowetz (Klobouk) bei Brünn, wo ich es gemeinsam mit Porphyridium cruentum, verschiedenen Oscillaria-Arten und Diatomeen vorgefunden habe. Es stellt einen Organismus dar, der zur Lebensweise der "Luftalgen" übergegangen ist. Auf den unter einer Glasglocke feuchtgehaltenen Ziegelsteinen entwickelten sich stellenweise große, schleimige Beläge, in denen fremde Algen kaum aufkommen konnten. Von solchen Stellen wurde etwas in halbverdünnte Knop'sche Nährlösung und auf Agar mit anorganischen

¹⁾ Die Übersetzung der russisch geschriebenen Publikation verdanke ich Herrn Direktor Schöffke, Lektor an der deutschen technischen Hochschule Prag. Es sei ihm an dieser Stelle mein bester Dank abgestattet.

²⁾ Herrn Prof. Dr. V. Langhans, Vorstand der Forschungsstation für Fischzucht und Hydrobiologie in Hirschberg i. B., danke ich für das freundliche Entgegenkommen beim Sammeln von Material in der Hirschberger Umgebung.

Salzen der oben mitgeteilten Kombination übertragen. Als besonders geeignet erwiesen sich feste Substrate. Auf ihnen gelingt die Fortführung der Rohkultur durchaus sicher.

Die Zellen zeigen im ausgewachsenen Zustand (in den Nachmittagsstunden) auf nährstoffhaltigen Substraten meist gerade zylindrische Form. Bisweilen sind sie schwach gekrümmt. Die Enden sind etwas zugespitzt, an den Polen abgerundet. Kurz nach der Zellteilung ist das jüngere Ende einfach abgerundet (Textfig. Aa).



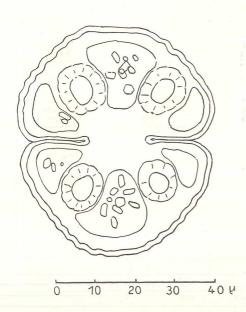


Textfig. A. Mesotaenium caldariorum a) Ältere Zelle aus einem im Licht auf Agar erwachsenen Kulturmaterial. b) Zelle aus einem im Dunkeln auf 1 proz. Glukose in $3^{1}/_{2}$ Monaten erwachsenem Material. c) 20 Tage alte Zelle aus stickstofffreier Nährlösung. d) Zelle vom Grunde einer 3 Monate alten Lösungskultur. e) Zelle aus einem im Licht auf 10 proz. Glukose 30 Tage kultivierten Material. Öl ist schwarz dargestellt. Mit Zeichenapparat. Originalzeichnung ist auf $2^{1}/_{3}$ verkl.

Die Breite beträgt 11—14 µ, die Länge 34—38 µ. Auf alten, erschöpften oder ungünstig zusammengesetzten Substraten ändert sich die Breite um ein Geringes, beträchtlich aber ihre Länge. Unter gewissen Umständen erfährt auch die Form eine Veränderung, und die sonst einzeln auftretenden Zellen können in lockerem, fädigem Zusammenhang verbleiben (Taf. 9 Fig. 2 u. 3). Geschlechtliche Fortpflanzung wurde weder in der Natur noch in der Kultur bisher

beobachtet, so daß die Bestimmung lediglich nach den vegetativen Zellen vorgenommen wurde (Hansgirg (1886), West (1904)). Nach West sind Zygoten von Mesotaenium caldariorum überhaupt noch unbekannt.

Cosmarium Botrytis Menegh, (bestimmt nach West (1912)) verdanke ich Herrn Prof. Dr. Pringsheim. Er hat mir diesen Stamm in Speziesreinkultur mit zwei anderen Stämmen dieses Cosmariums für die Versuche zur Verfügung gestellt. Die Kulturdauer dieser



Zelle im optischen Schnitt. Pyrenoide, Vakuolen mit Kristallen. Mit Zeichenapparat. Original auf 2/3 verkl. stämmen übernahm ich von

Stämme (seit 1920) beweist ebenfalls, daß die von ihm 1918 mitgeteilten Kulturbedingungen eine Dauerkultur sichern. Das seinerzeitige Ausgangsmaterial stammte aus dem Havelflusse bei Berlin. Die Zellen sind ziemlich konstant in Form und Größe. Sie besitzen 48-52 μ Breite und 56-64 μ Länge. Die Skulptur und sonstige Einzelheiten sind in Textfig. B ersichtlich. Geschlechtliche Fortpflanzung hat weder er noch ich bisher gesehen. Die Fortführung der Stämme geschah größtenteils in Erddekokt, aber auch in der eingangs genannten syn-Textfig. B. Cosmarium Botrytis, vegetative thetischen Nährlösung.

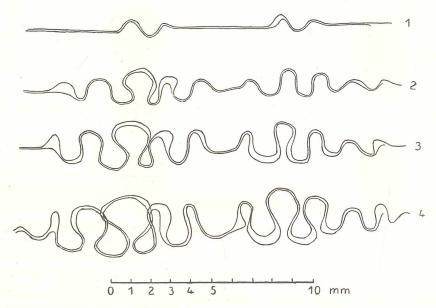
> Neben diesen Cosmariumihm einen Zygnema-Stamm 1).

Dieser Stamm wurde seinerzeit aus einem Rohmaterial von Töltz (Oberbayern) isoliert (vgl. Pringsheim (1912)). Trotz der 14 jährigen Kultur wurde nie Copulation bemerkt. Auch in der Natur wurden seinerzeit solche nicht gesehen, so daß unbekannt ist, welche der dickfädigen Spezies hier in Kultur vorliegt. Die Dimensionen der vegetativen Fäden allein lassen nicht zwischen Zygnema cruciatum und Zygnema stellinum unterscheiden. Die Zellen besitzen

¹⁾ An dieser Stelle danke ich Herrn Prof. Dr. Pringsheim wärmstens für das mir erwiesene Entgegenkommen und für zahlreiche Ratschläge während der Untersuchung.

nährstoffhaltigen Substraten eine durchschnittliche Breite von 32 μ und eine Länge von 50—60 μ . Die mächtige Gallertscheide ermöglicht dieser Alge, genau so wie die Schleimmassen dem *Cosmarium*, amphibische Lebensweise.

Das Ausgangsmaterial der reingezüchteten Spirogyra varians stammte aus einem Graben in der Nähe von Reichstadt in Böhmen, wo diese Art jährlich festgestellt werden konnte. Sowohl in der Natur als auch später in der Kultur erlaubten vorgefundene Copulationsstadien eine genaue Bestimmung der Art (nach Borge-Pascher

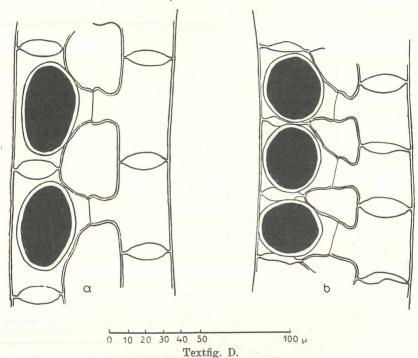


Textfig. C. Lagerung eines Fadenpaares von Zygnema sp. auf der Agaroberfläche bei stattfindender Zellvermehrung. 1. Situation 16 Stunden nach der Übertragung am 20./12. 1924, 2. am 21./12., 3. am 23./12., 4. am 24./12. Mit Zeichenapparat.

Original auf ²/₃ verkl.

(1913)). Die vegetativen Fäden sind meist 32μ dick und in nährstoffreichen Medien meist $1^1/_2$ mal so lang. Der meist in der Einzahl (aber auch öfters in der Zweizahl) vorhandene Chromatophor ist unter guten Ernährungsbedingungen breit und zeigt $2-2^1/_2$ Umgänge (Textfig. Fb). Sein Rand ist stark gelappt. Bei der Copulation sind die weiblichen Zellen auf der Copulationsseite meist mehr oder weniger angeschwollen. Die Zygoten sind kurz- bis langellipsoidisch, bisweilen nähert sich ihre Gestalt stark der Kugelform. Das Volumen und damit die gewöhnlich angegebenen Dimensionen (Länge und

Breite) der Zygoten ist, wie ich (1925) gezeigt habe, von dem Volumen der beiden in Copulation getretenen Zellen abhängig und, da die Volumina der beiden Zellen zur Zeit der Copulation innerhalb weiter Grenzen schwanken können, von nicht allzu großer Bedeutung. Überdies können sie aus der Textfig. D (Copulationsstadien aus absoluten Reinkulturen) entnommen werden.



Copulierende Fadenpaare von $Spirogyra\ varians$, erhalten an absolut reinem Material in Lösungskultur. Mit Zeichenapparat. Original auf $^2/_3$ verkl.

Aus dem Ausgangsmaterial wurden gesunde, stärkearme Fäden herausgeholt, in sterilisiertem Wasser abgespült und einzeln auf Agar mit anorganischen Salzen (KNO₃ 0,02 Proz., K₂HPO₄ 0,002 Proz. MgSO₄ 0,001 Proz., FeCl₃ oder FeSO₄ 0,00005 Proz. aufgetragen). Die Fäden legen sich infolge des in den nächsten Tagen einsetzenden Längenwachstums in weite Maschen (Textfig. E). Durch weitere Überimpfung auf den gleichen Agar lassen sich dünnfädige Formen recht gut kultivieren. Die Kultur gelingt aber nicht bei Anwesenheit vieler Bakterien. Darauf ist es zurückzuführen, daß die von in der Natur eingesammelten Materialproben angelegten Erstlingskulturen, die anfangs eine geringere Anzahl von Keimen enthalten,

gewöhnlich angehen, nicht immer aber die von diesen angelegten Tochterkulturen. Der Bakterienbesatz des eben aus der Natur geholten Materiales ist gering; er entwickelt sich erst in den Agarkulturen so reichlich, daß die daraus neuerlich übertragenen Fadenstücke vielfach gleich vom ersten Augenblick an derart von den ebenfalls mit aufkommenden Bakterien überwuchert werden, daß ein intensives Wachstum der Alge unterbleibt und sie daher nie mehr aus dem Bakterienlager herauswachsen kann. Solche Kulturen sind also erfolglos. Es empfiehlt sich daher, Tochterkulturen immer in der Mehrzahl anzulegen, um die Kontinuität der Stämme zu erhalten.

In Lösungskulturen von gleicher Zusammensetzung war es zwar möglich, Fäden von Spirogyra varians (auch anderer Arten) über Wochen, auch Monate zu erhalten, sogar Vermehrung zu erzielen, aber die Zellen zeigten immer ein mehr oder weniger krankhaftes Aussehen (vergilbte Chromatophoren mit großer Menge an Pyrenoidund Stromastärke (Czurda (1924)). Die bessere Eignung fester Substrate für die Rohkultur fädiger Formen mag vielleicht unter anderem, wie Veränderung der Lösung durch die Lebenstätigkeit der Bakterien, darauf beruhen, daß es bei der räumlichen Fixierung der Organismen auf der Agaroberfläche den fadenförmigen Algen möglich ist, sich durch Fortwachsen von der Impfstelle ziemlich bakterienfrei zu erhalten, wogegen die Fäden in Lösungen überall und in allen Teilen ihrer Gallertoberfläche der Infektion unterliegen. Für diesen Zusammenhang scheint die Tatsache zu sprechen, daß die Fäden von Spirogyra bei Erzielung absoluter Reinheit in Lösungen, in denen sie vor ihrer Befreiung von Bakterien kaum fortkamen. weitaus besser gedeihen als in den Agarkulturen, selbst bei völliger Abwesenheit von Bakterien.

Die Gewinnung der absoluten Reinkulturen.

Der einzuschlagende Vorgang der Reinzüchtung war bei allen vier genannten Algen durch die Beobachtung gegeben, daß die in verflüssigten Agar eingeschlossenen Zellen sich ebenso rasch vermehren, wie die auf der Oberfläche befindlichen. Siehe bereits Pringsheim (1912).

Bei Mesotaenium wurden möglichst reine Zellenmassen aus Rohkulturen durch kräftiges Schütteln in keimfreiem, destilliertem Wasser aufgeschwemmt. Durch das Schütteln wurden die in Schleimmassen befindlichen Zellen voneinander isoliert. Etwas von dieser Aufschwemmung wurde nun verflüssigtem Agar (mit den schon

VIKTOR CZURDA

genannten Salzzutaten) zugesetzt und dieser in Petrischalen nach der in der Bakteriologie üblichen Weise erstarren gelassen. Schon in etwa 10 Tagen sah man mit freiem Auge grüne, punktförmige Kolonien auftreten. Bei mikroskopischer Kontrolle erwiesen sich aber viele Kolonien noch unrein. Von reinaussehenden Kolonien, die an der Oberfläche erwachsen oder an diese erst hervorgebrochen waren, wurde in Schrägagarröhrchen abgeimpft und die Entwicklung einer reichlichen Zellenmasse abgewartet. Nach 6 Wochen, während der ansehnliche Kolonien herangewachsen waren, wurden während der ansehnliche Kolonien herangewachsen waren, wurden mit diesem Material abermals Plattengüsse vorgenommen. Von mehreren Kolonien des zweiten Plattengüsses wurden am 26. Mai 1923 Schrägagarkulturen angelegt und ihre Entwicklung abgewartet. Da das Zellenmaterial auch bei mikroskopischer Untersuchung völlig rein aussah, wurden zunächst davon je zwei Tochterkulturen angelegt. Dann wurde in die Röhrchen der Mutterkulturen Bouillon (0,5 Proz. Pepton Witte, 0,5 Proz. Chlornatrium, 0,5 Proz. Liebig's Fleischextrakt, neutralisiert mit Natriumkarbonat) eingegossen, kräftig durchgeschüttelt, bis sich die Zellen gleichmäßig verteilt hatten. Zur Kontrolle wurden Bouillonröhrchen mit unreinem Zellenmaterial geimpft. Alle Pährehen zunden denn im Prutschnenkten zur Kontrolle Zellenmaterial geimpft. Alle Röhrchen wurden dann im Brutschrank

Zellenmaterial geimpft. Alle Röhrchen wurden dann im Brutschrank bei 30°C untergebracht. In den Kontrollröhrchen mit dem absichtlich unreinen Impfmaterial war bereits nach 18 Stunden eine starke Trübung eingetreten. Die zu untersuchenden Röhrchen (sechs Stück) blieben aber auch nach 6 tägigem Verweilen im Brutschrank vollkommen klar. Die Tochterkulturen, die von diesem Zellenmaterial vorher angelegt worden waren, wurden als absolut rein angesehen. Cosmarium Botrytis wurde in der gleichen Weise behandelt und trotz der hier vorhandenen mächtigen Gallertmassen rein erhalten. Von einer Rohkultur in synthetischer Nährlösung der oben bereits genannten Zusammensetzung, in der eine reichliche Bakterienflora mitvegetierte, wurde ein Stück der gallertigen Masse in sterilem Wasser durch kräftiges Schütteln aufgeschwemmt, mit geringer Tourenzahl zentrifugiert, dann abermals mit sterilem Wasser aufgeschwemmt und schließlich nach einigen Wiederholungen dieses Vorganges mit Agar in der bekannten Weise in Petrischalen ausgegossen. Aus der Aussaat entwickelten sich in 4 Wochen größere Kolonien. Die von den Zellen reichlich ausgeschiedenen Gallertmassen durchbrechen leicht die Agargeschichte und quellen aus ihr kuppenförmig hervor. Die nach der Waschung des Ausgangsmateriales in wesentlich geringerer Zahl auftretenden Bakterienkolonien beweisen, daß die Keime nur oberflächlich den Gallerten

aufsitzen. Von den an die Agaroberfläche emporgelangten Kolonien wurde am 16. Juni 1924 mit lanzettlich geformter Nadel etwas in Schrägagarröhrchen abgeimpft und die Weiterentwicklung abgewartet. Das in 8 Wochen herangewachene Zellenmaterial wurde ebenso wie bei *Mesotaenium*, nachdem je zwei Tochterkulturen angelegt worden waren, in Bouillon übertragen, kräftig durchgeschüttelt und bei 30° C 6 Tage lang im Brutschrank belassen. Die Tochterkulturen der ungetrübt gebliebenen Stammkulturen wurden als rein angesehen.

Um Zygnema und Spirogyra von den an ihren Gallerten haftenden Bakterien zu befreien, wurde der gleiche Weg eingeschlagen, auf dem es Pringsheim (1914) gelungen war, fädige Cyanophyceen rein zu züchten. Es wurden kürzere Fadenstücke in den noch flüssigen Agar (1¹/₂ Proz., 32⁰ C) gemischt und dieser in Petrischalen erstarren gelassen. Ebenso wie die Cyanophyceen wachsen auch die dünnfädigen Vertreter der beiden genannten Gattungen unter reichlicher Schleifenbildung durch den Agar und brechen oft auf seine Oberfläche durch. Der an solchen Fäden auftretende Bakterienbesatz beschränkt sich, soweit man das mikroskopisch sehen kann, auf einen Abschnitt, der ungefähr der ursprünglichen Fadenlänge entspricht. Die in den Agar hinauswachsenden Fadenstücke sehen rein aus. Gelangt ein vom Ausgangspunkt entlegenerer Fadenabschnitt an die Agaroberfläche, so entwickelt sich auch hier unter reichlicher Schleifenbildung ein Fadenstück, das vollkommen rein aussieht. Solche an die Oberfläche emporgewachsene Fadenstücke lassen sich bei dünnfädigen Formen relativ leicht bei mikroskopischer Kontrolle isolieren, ohne das im Agar befindliche Stück mitzureißen. Bei dickfädigen Formen (30-60 µ), deren Zusammenhang viel fester ist, muß das Fadenstück bei Beobachtung der Sterilität erst mittels einer Nagelschere zerlegt werden, da sonst das ganze, auch im Agar befindliche Fadenstück mit herausgezogen wird. Die Verwendung flachgeschliffener Nadeln bringt infolge der großen Zähigkeit der Zellmembranen und der geringen Widerstandsfähigkeit des Substrates nicht den gewünschten Erfolg. Manchmal ist die Übertragung auch ohne Schere rasch und bequem zu bewerkstelligen, weil die Fäden von selbst zerfallen. Das von der Platte übertragene Zygnema-Material (23. Juni 1924) hat die Probe auf Reinheit, die in der gleichen Weise wie bei den beiden vorhergenannten vorgenommen wurde, schon nach dem ersten Plattenguß bestanden. Ebenso gelang es bei Zygnema peliosporum (17./7. 25).

Fäden von Spirogyra varians wurden zwar ebenfalls in dieser Weise rein erhalten, aber die von der Platte übertragenen Faden-

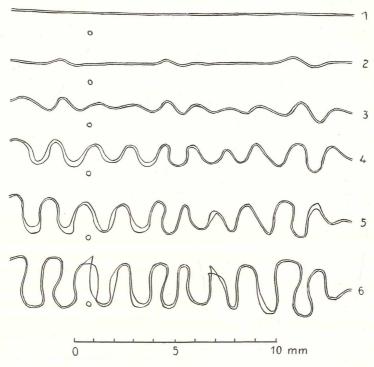
stücke starben auf dem neuen Substrat sofort ab, obwohl dieses hinsichtlich seiner Zusammensetzung vollkommen identisch war mit dem der Petrischalen, da beide aus der gleichen vorrätig gehaltenen Agarmenge genommen waren. Nach vielen erfolglosen Wiederholungen und nach der Vergewisserung, daß Giftwirkung vonseiten der Impfnadel (Platinit) nicht vorliegen könne, wurde der Mißerfolg der großen Empfindlichkeit der Fäden gegen Austrocknung zugeschrieben; es ist offenbar der Mangel an mächtigeren Gallerthüllen, der sie im Gegensatz zu drei anderen Vertretern diese Manipulationen nicht überdauern läßt. Als auch die rascheste Übertragung erfolglos geblieben war, die Übertragung mehrerer Fäden aber nicht ratsam schien, wurde die Reinigung der Fäden durch Waschung versucht. Zu diesem Zweck wurde eine ganze Reihe von Eprouvetten mit ca. 5 ccm doppeltdestillierten Wasser beschickt und sterilisiert. Das Rohmaterial, ein kleines Stückchen der Algenwatte, wurde in das erste Röhrchen eingetragen, kräftig geschüttelt, mit steriler Nadel wiederum herausgeholt und nach Abfließen des überschüssigen Wassers in das zweite übertragen. Hier erfuhr die Watte die gleiche Behandlung. Nach einer 10-15 maligen Wiederholung des gleichen Vorganges wurden schließlich nur einzelne Fadenstücken herausgeholt und auf einer in Petrischalen erstarrten Agarschichte ausgelegt. Das auf der Nadel haftende Wasser schützte anscheinend den Faden vor allzu rascher Austrocknung. Nach 24 Stunden waren die Faden bereits so geschlängelt, wie es in Textfig. E 2 dargestellt ist. Die von diesen Fäden gewonnenen Kulturen sahen wohl bakterienrein aus, mußten aber der gleichen Reinigung nochmals unterworfen werden. Erst bei Fäden der nächsten Plattenkultur ist die Probe auf Bakterienfreiheit positiv ausgefallen (19. November 1925). Die weitere Kultur der isolierten Stämme erfolgte zunächst ebenfalls auf Agar.

Damit bin ich in den Besitz eines Materiales von fünf Conjugatenvertretern gelangt, das immer sicher und bequem kultivierbar ist und daher jederzeit in gleicher, natürlicher Beschaffenheit für Versuche zur Verfügung steht und das absolut rein ist.

Die Kulturversuche mit absolut reinem Material.

1. Die Fortführung der Stammkulturen.

Die Fortzüchtung der von Mesotaenium rein gewonnenen Stämme erfolgte, wie schon bemerkt wurde, zunächst auf dem Agar, dessen Zusammensetzung bereits genannt wurde. Die damit geschaffenen Milieubedingungen gestatten ein ausgezeichnetes Wachstum. An Stelle von Gips (Pringsheim (1912)) hat sich für die Kultur auch asche- und stärkefreies Filterpapier (hergestellt von Max Drevershoffs, Dresden), das in Form von ca. 1,5 cm breiten und ca. 8 cm langen Streifen der Eprouvettenwand angelegt wird und das von ca. 5 ccm Mineralsalzlösung (wie im Agar) gleichmäßig feucht gehalten wird, wegen seiner einfachen Zurichtung sehr bewährt.



Textfig. E. Lagerung eines Fadenpaares von Spirogyra varians auf der Agaroberfläche bei stattfindender Zellvermehrung. 1. Situation kurz nach der Übertragung am 25./2. 1925, 2—5, in den aufeinanderfolgenden Tagen, 6. am 2./3.

Mit Zeichenapparat. Original auf ²/₃ verkl.

Dieses Kulturverfahren, das bereits von Correns (1899), Becquerel (1906), Servettaz (1913) und Pringsheim (1921), dort die diesbezüglichen Literaturzitate, für die Kultur von Moosen verwendet wurde, wird besonders dort anzuwenden sein, wo es sich um Beschaffung größerer Materialmengen handelt. Da das genannte Filterpapier, wie besondere Kulturversuche gezeigt haben, keinen als Stickstoffoder als Kohlenstoffquelle in Betracht kommenden Stoff enthält, so

Viktor Czurda

228

kann es auch in manchen eingehenderen Versuchen Verwendung finden. Die Lösung allein ist zwar auch verwendbar, aber man wird, da Impfungen in Lösungen nur einen geringen Ernteertrag liefern, die Kultur auf feuchtgehaltenen Oberflächen vorziehen, wenn die Fragestellung die Verwendung dieses Hilfsmittels zuläßt. Das bessere Gedeihen dieses Mesotaenium auf Oberflächen dürfte mit der Anpassung an die Existenzbedingungen "auf dem Lande" (Luftalge) zusammenhängen (vgl. Fritsch (1922, 1923)). Die Impfungen wurden dort, wo es sich um den Vergleich von Ernteerträgen gehandelt hat, mit Tropfen von Aufschwemmungen vorgenommen. Für die Aufschwemmungen wurden 3—4 Wochen alte Agarkulturen in Eprouvetten genommen, die nach Beschickung mit sterilem Wasser kräftig durchgeschüttelt wurden. Wo eine möglichst gleichmäßige Dosierung des Impfmateriales nicht notwendig war, wurde mit der Nadel geimpft. Die Stammkulturen auf Agar wurden stets nach 4 Wochen erneuert; sie bleiben aber viel länger 3—4 Monate lebensfähig.

Die Fortführung der von Cosmarium, Zygnema und Spirogyra isolierten Stämme erfolgte ebenfalls wegen der bequemeren Kontrolle von etwa nachträglich erfolgenden Infektionen durch Luftkeime auf Agarsubstrat. Das Wachstum von Cosmarium geht aber unter diesen Umständen sehr langsam und unsicher vor sich. Die Impfungen in

Die Fortführung der von Cosmarium, Zygnema und Spirogyra isolierten Stämme erfolgte ebenfalls wegen der bequemeren Kontrolle von etwa nachträglich erfolgenden Infektionen durch Luftkeime auf Agarsubstrat. Das Wachstum von Cosmarium geht aber unter diesen Umständen sehr langsam und unsicher vor sich. Die Impfungen in Nährlösung gleicher Zusammensetzung ist ertragreicher; am besten eignet sich wiederum das mit dieser Lösung durchtränkte Filtrierpapier, auf dem mächtige grüne Gallertmassen in Entwicklung gelangen. Die Erneuerung solcher Eprouvettenkulturen braucht nur alle zwei Monate vorgenommen zu werden. Das Zellenmaterial solcher Kulturen ist ziemlich gleichartig. Die Überimpfung geschah durch Übertragung eines Stückchens des Gallertlagers.

durch Übertragung eines Stückchens des Gallertlagers.

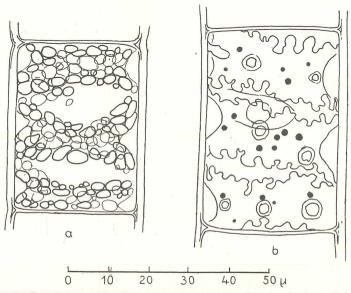
Das Wachstum der auf den Agar aufgetragenen Fäden von Zygnema und Spirogyra, die beide annähernd die gleiche Fadendicke besitzen, verursacht eine geschlängelte Verlagerung der Fäden. Die Schlängelung geht in der Weise vor sich, daß ein völlig gestreckter Faden nach 18 Stunden in regelmäßigen Abständen welligen Verlauf annimmt, wie es in Textfig. C u. E von einem Fadenpaar dargestellt ist. In den gewellten Fadenabschnitten war Zellvermehrung erfolgt. Mit dieser Versuchsanordnung läßt sich also einfach die Verteilung der Zellvermehrungszonen im Faden zur Darstellung bringen, diese auffallende Verteilung des Wachstums im Faden ließ sich auch bei meinen noch unveröffentlichten Untersuchungen über das Vorkommen von Kern- und Zellteilungen im Faden an anderen Arten beobachten. Von anfänglichen Krümmungen schreitet die Schlängelung des Fadens

mehr oder weniger regelmäßig nach beiden Seiten fort, wobei sich die ersten Krümmungen zu größeren Bogen erweitern. Solange Knickung, Zerfall längs der Mittellamelle und Überschiebungen des Fadens nicht eintreten, bleiben die Stellen anfänglicher Krümmung mehrere Tage kenntlich. Knickung und darauf folgender Zerfall des Fadens infolge des Absterbens der geknickten Zelle tritt bei dieser Spirogyra-Art im Gegensatz zu Zygnema sp. sehr leicht ein. Denn es leisten die durchschnittlich größere Zellänge und die zartere Membran Vorschub. Der bei Zygnema spärlicher vorkommende Fadenzerfall erfolgt durch Lockerung des Zusammenhanges längs der Mittellamelle. Werden zwei Fadenabschnitte parallel dicht nebeneinander gestreckt aufgelegt, was leicht zu bewerkstelligen ist, wenn ein längerer Faden in seiner Mitte mit hakenförmiger Nadel aufgenommen und über die Agaroberfläche dahingezogen wird, so erfolgt die erste Ein-krümmung der beiden Fadenabschnitte auffallenderweise immer an gemeinsamen Stellen, die ebenfalls in regelmäßigen Abständen voneinander liegen (Textfig. C u. E). Das gleichartige Ergebnis einer Reihe derartiger Versuche schließt aus, daß die Abschnitte der Zellvermehrung beider Fadenabschnitte zufällig nebeneinander fielen. Da diese Erscheinungen für andere Fragen nicht unwesentliche Beiträge liefern können, soll ihre Behandlung später ausführlich erfolgen.

Die Chromatophoren der auf Agar kurzgliederigen Zellen von Spirogyra sind breit und intensiv grüngefärbt, wie bei dem aus der Natur stammenden Material. Aber sie enthalten viel Pyrenoid- und Stromastärke (Textfig. F). Es sind also die auf dem Agar gegebenen Bedingungen für das Gedeihen von Spirogyra nicht völlig entsprechend. Denn die Untersuchung von Fäden natürlicher Standorte ergibt, daß zur Zeit intensivster Zellvermehrung, die wir im Interesse der Kultivierbarkeit anstreben, Stärke nur in Form einer Hülle um die Pyrenoide herum vorfindet Wenn auch die Agaroberflächenkultur demnach nicht natürliche Existenzbedingungen schafft, so ist doch mit ihr eine derartige Annäherung an solche gegeben, daß wir im Interesse der Übersichtlichkeit Agar als Kulturmedium für die Stämme beibehalten haben. Allerdings muß eine Erneuerung der Kulturen stets nach 3—4 Wochen vorgenommen werden, weil sich nach Ablauf dieser Zeiträume zu dem an sich nicht schädlichen Stärkeüberfluß Degenerationen des Chromatophors zugesellen, die durch Darbietung natürlicher Lebensbedingungen nicht mehr wett gemacht werden können. Bisweilen tritt in älteren Kulturen Copulation auf. Die Bildung von rhizoidartigen Auswüchsen, die bei anderen Arten auf Agar leicht erhalten werden, wurde in diesen

Kulturen nicht beobachtet, obwohl Spirogyra varians dazu befähigt ist (Czurda 1925).

Da wir aber in *Spirogyra* einen typischen Wasserbewohner vor uns haben, wurden nochmals trotz der früheren erfolglosen Versuche Lösungskulturen, diesmal aber mit absolut reinem Material, versucht. Lösungen mit den gleichen Nährsalzzutaten wie der Agar gestatteten jetzt eine sehr gute Zellvermehrung bei völlig natürlicher Färbung und normalem Stärkegehalt der Chromatophoren. Durch die inzwischen



Textfig. F. Das Aussehen der Zellen von *Spirogyra varians* in absoluter Reinkultur. a) Zelle aus 21 tägiger Kultur auf Agar. b) Zelle aus 42 tägiger Kultur in 10 ccm Nährlösung. Mit Zeichenapparat. Original auf ²/₃ verkl.

von Uspenski (1924) publizierten und mir damals erst zur Verfügung stehenden Untersuchungsergebnisse angeregt, setzte ich in der bis zu diesem Zeitpunkt mit Eisenchlorid versehenen Lösung Ferrosulfat als Eisenquelle zu und fand die Lösung ein ausgezeichneteres Kulturmedium für Spirogyra varians. Trotz der kleinen Flüssigskeitsmengen (10 ccm) erfolgt eine üppige Entwicklung des Impfmaterials. Das in solchen Kulturen vorhandene Material bleibt über einen Monat in seiner natürlichen Beschaffenheit. In 2 Monate alten Kulturen tritt Degeneration und Fadenzerfall mit gleichzeitiger Bräunung der Flüssigkeit ein. In den Lösungskulturen tritt aber eine bemerkenswerte Erscheinung auf. Das Impfmaterial, bei Spirogyra und Zygnema eine mit hakenförmiger Nadel aus der Ausgangskultur herausgehobene

kleine Fadenmenge, geht bei *Spirogyra* innerhalb der ersten 5 Tage fast immer in Copulation über. Erst aus den übrigbleibenden vegetativen Fäden entwickelt sich in der Folgezeit eine üppige Watte. Tabelle I soll die Häufigkeit des Copulationseintrittes zeigen. Gleichzeitig ist aus ihr ersichtlich, daß die Lösungskultur durchaus verläßlich ist.

Tabelle I.

4 Serien von Lösungskulturen (Spirogyra varians). 10 ccm Nährlösung (KNO₃ 0,02 Proz., K₂HPO₄ 0,002 Proz., MgSO₄ 0,001 Proz., FeSO₄ 0,00005 Proz.) in böhmischem Kaliglas (Eprouvette). Anfangs pH 6,0, nach 4 Wochen pH 7,6—7,9 (mit Indikatoren nach Michaelis). Temperatur 18—22° C, diffuses Tageslicht am Nordfenster.

Versuchs- nummern der Kulturserie	Alter dieser Stamm- kultur in Tagen	Impftag der hiervon angesetzten Lösungs- kulturen	Anzahl der Lösungs- kulturen	Anzahl der Kulturen mit Copulation	Tag der Be- obachtung	Anzahl der nicht an- gegangenen Lösungs- kulturen
8	30	23./5.	27	24	2./6.	0
12	22	16./6.	17	13	21./6.	1
13	22	16./6.	16	16	21./6.	0
14	22	16./6.	13	9	21./6.	0

Auf die Copulation auslösenden Faktoren kann hier noch nicht eingegangen werden. Vorläufig sei nur bemerkt, daß ein gewisser indirekter Zusammenhang mit der chemischen Beschaffenheit der Gefäßwände vorliegt. Wie für Mesotaenium, Cosmarium und Zygnema, so wurden nämlich auch für Spirogyra Kulturgefäße aus böhmischem Kaliglas verwendet und erwiesen sich als durchaus brauchbar. Der Verwendung dieser Glassorte ist es zuzuschreiben, daß bei Lösungskulturen das Calcium nicht gesondert zugesetzt werden mußte. Es geht in ausreichendem Maße aus diesem Glas in Lösung. Wird Jenaer Glas in Verwendung genommen, so ist ein Zusatz eines Calciumsalzes notwendig. Für Spirogyra genügt es, 2 Proz. einer gesättigten Gipslösung nach der Sterilisation zuzusetzen, um die Entwicklung zu ermöglichen. Wird für die Lösungskulturen Jenaer Glas verwendet, so unterbleibt auch die Copulation von Spirogyra.

Für die Kultur von Zygnema sp. eignet sich am besten Agar oder das mit der Nährlösung getränkte Filterpapier. In der Lösung selbst ist die Zellvermehrung sehr gering im Verhältnis zu den Kulturerträgen auf befeuchteten Oberflächen.

Die Beleuchtung der Kulturen erfolgt in den lichtarmen Wintermonaten in 12 stündigen Perioden durch eine 300 Watt Azoglühbirne, deren Wärmestrahlung durch fließendes Wasser in einer ca. 5 cm dicken Schicht ausgeschaltet wird. Die Kulturen befinden sich in einer 50-90 cm weiten Entfernung vom Glühdraht. Diese Lichtintensität ist vollkommen ausreichend (siehe Taf. 10 Fig. 4 u. 5), um ein ständig üppiges Wachstum zu unterhalten. Plätzer (1917) fand für eine dünnfädige Spirogyra-Spezies bei 174 H-Kerzen (20° C) jene Bedingungen, bei denen sich Assimilation und Atmung. die Wagschale halten. Im Sommerhalbjahr sind die Kulturen an einem Nordfenster dem diffusen Tageslicht ausgesetzt. Die Wachstumsgeschwindigkeit und das morphologische Aussehen des Winter- und Sommermaterials läßt unter diesen Umständen keinen Unterschied erkennen.

2. Orientierende Ernährungsversuche.

Wenn auch durch diesen Kulturerfolg bereits eine ganze Reihe von Untersuchungsmöglichkeiten geschaffen ist, bleibt doch ernährungsphysiologisch manches offen. So interessiert, inwieweit diese als geeignet befundenen Milieubedingungen abgeändert werden können, um noch Wachstum zu gestatten und in welcher Weise die reingezüchteten Conjugaten auf Veränderungen ihres Milieus reagieren. Die Fülle des hierher Gehörigen ist zu groß und umfangreich, als daß sie in der bisher verfügbaren Zeit hätte erledigt werden können. Es handelt sich daher vorläufig um orientierende Versuche.

Es handelt sich daher vorläufig um orientierende Versuche.

Eine hervorragende Rolle beansprucht die Frage, welche Verbindungen als Stickstoffquelle in Betracht kommen. Die Prüfung erfolgte in der Weise, daß der zu untersuchende Stoff in geeigneter Konzentration in der im ganzen hergestellten Grundlösung an Stelle des sonst verwendeten Kaliumnitrates eingeführt wurde. Mesotaenium, Cosmarium und Zygnema sp. wurden auf ein mit diesen Lösungen getränkten Filterpapierstreifen (5 ccm Lösung), Spirogyra in die Lösung (10 ccm) geimpft. Die in der Tabelle II unter I—VII aufgeführten Stoffe sind bei jedem einzelnen Organismus jeweils immer gleichzeitig geprüft worden, damit Ertragsverschiedenheiten, bedingt durch Verschiedenheit der Temperatur und Lichtintensität ausgeschaltet wurden. Durch Vergleich der Kulturen nach Verlauf von 4 Wochen wurde die Eignung des betreffenden Stoffes ermittelt. Nitrat und Ammonstickstoff sind von allen vier Vertretern gleich gut verwertbar. Die vorgefundenen Differenzen sind durch Reaktion der Nährlösung bedingt, da die optimale p_H-Konzentration für jeden dieser Organismen

Tabelle II.

Kulturversuche mit verschiedenen Stickstoffquellen; die Grundlösung: K₂HPO₄ 0,002, MgSO₄ 0,001 Proz., FeSO₄ 0,0002 Proz.; Kulturgefäße aus böhm. Kaliglas. + Zuwachs, ○ kein Zuwachs, × geschlechtliche Fortpflanzung. Künstliche Beleuchtung.

		<u> </u>		<u> </u>	
		Mesotaenium	Cosmarium	Zygnema	Spirogyra
		16./1.—10./2. 22./2.—18./3. 23./4.—25./5. 1924	5./12—31./12. 1924	5./12.—31./12. 1924	21./4.—10./5. 1925
Kaliumnitrat Calciumnitrat Ammoniumsulfat	0,02 Proz. 0,02 Proz. 0,02 Proz.	+++ ++ +++	+++ ++ ++	+++ ++ +++	+++ ++ ++ später
Glykokoll Asparagin Leucin, racem,	0,02 Proz. 0,02 Proz. 0,02 Proz.	+++	000	000	Absterben \bigcirc (×) $+++$ \bigcirc (×)
Kontrollve ohne Stick		. 0	0	0	○(×)

an verschiedener Stelle liegt (Tab. III). Von den geprüften organischen Stickstoffquellen erwies sich bei Mesotaenium Glykokoll und Asparagin als ausgezeichnete Stickstoffquelle, und bei Spirogyra nur Asparagin. Dieser Befund steht nicht im Einklang mit der Angabe Bokorny's (1896), daß "Spirogyra" Glykokoll als Stickstoffquelle auswerten kann. Außer den genannten, organischen Stickstoffquellen von bekannter Zusammensetzung wurde noch Fleischextrakt (Liebig), Pepton (Witte) und Trypsingelatine, jedoch mit negativem Erfolg versucht. Glykokoll, Leucin und im stickstofffreien Kontrollversuch trat bei Spirogyra in den ersten Tagen Copulation ein. Das Zellenmaterial der gut gewachsenen Lager von Mesotaenium im Ammonsulfatversuch zeigte aber bei mikroskopischer Kontrolle ein verändertes Aussehen, wie es in Taf. 9 Fig. 3 dargestellt ist. Die Zellen sind stark verlängert und vielfach gekrümmt und bleiben nach der Zellteilung miteinander in Verbindung. Die Veränderung ist wohl durch die frei werdende Säure bedingt. Kontrollkulturen mit einem überschüssigen Zusatz an Calciumkarbonat zur Bindung der frei werdenden Säure zeigten nämlich unter sonst völlig gleichen Kulturbedingungen normales Aussehen der Zellen (Taf. 9 Fig. 2). Da sich bei Spirogyra auch nach 3 Wochen in den Ammonsulfatkulturen die Säurewirkung bemerkbar machte, wurde hier die Abstumpfung der Säure in gleicher

Weise versucht. Ein Erfolg war insofern aber nicht zu verzeichnen, als die Ammonsulfatkulturen ohne Calciumkarbonat bedeutend länger und üppiger wuchsen als die Kontrollkulturen mit diesem Zusatz, offenbar durch zu starke Erhöhung des p_H -Wertes.

Tabelle III.

Das Wachstum bei verschiedener ph-Konzentration. + Wachstum, O Absterben, X Copulation. Die innerhalb der fetten Linie eingetragenen Daten sind von Versuchsreihen mit Phosphatmischungen in der üblichen Nährlösung mit 2 Proz. gesättigter Calciumsulfatlösung gewonnen. Die übrigen durch Beobachtung der Reaktionsveränderungen in Nährlösungen ohne Phosphatgemische. Kulturgefäße aus Jenaer Glas. Versuchstemperatur 21—26° C. Die Werte von ph der Phosphatgemische sind mit Indikatoren nach Michaëlis kontrolliert worden.

Diffuses Tageslicht am Nordfenster.

	5,4	5,6	5,8	6,0	6,2	6,4	6,6	6,9	7,2	7,3	7,5	7,7	7,9
Filterpapier Mesotaenium $\frac{n}{100}$ Phosphat		+	+++			+++		+++	+++		++	++	+
Filterpapier Cosmarium $\frac{\mathbf{n}}{100}$ Phosphat		0	0			+		++	++		+	0	
Lösung $Zygnema$ $\frac{n}{100}$ Phosphat	+		++			++		++	+		+	+	
$\begin{array}{c} \text{L\"{o}sung} \\ Spirogyra \\ \frac{\textbf{n}}{500} \text{ Phosphat} \end{array}$		0		+++	+++		++	++	×	×	Wac	och hstur glich	n

Ein besonderes Augenmerk war, wie schon die Stickstoffversuche zeigten, der Reaktion zuzuwenden. Die Feststellung der optimalen p_H -Konzentration wurde mit den gestellten Gemischen von primären und sekundären Kaliumphosphat versucht, das be-Mesotaenium, Cosmarium und Zygnema in n/100, bei Spirogyra in n/500 Konzentration nach der Sterilisation zu der verwendeten Lösung zugesetzt wurde. Das Ergebnis ist nach dem Augenschein in Tabelle III zur Darstellung gebracht. Bei der notwendigen Verdünnung des Phosphatgemisches wird nicht der nötige p_H -Bereich umfaßt, so daß zur Ergänzung noch p_H -Wertbestimmungen in anderen Lösungen vorgenommen wurden und in der Tabelle mit berücksichtigt sind (außerhalb der fetten Linie). Die tabellarische Zusammenstellung zeigt, daß der Wachstum-ermöglichende p_H -Bereich

bei Mesotaenium und Zygnema ein sehr weiter, bei Spirogyra etwas enger ist, wenn wir nur das Ergebnis der Phosphatlösungen berücksichtigen, und am engsten bei Cosmarium. Die mit Phosphatgemischen gewonnenen Ergebnisse sind besonders bei Spirogyra wiederholt mit p_H-Messungen von Nährlösungen ohne Phosphatgemischzusatz verglichen worden. Dabei ergab sich, daß das vegetative Wachstum seinen obersten Grenzwert nicht bei 7,0 hat, wie aus der Phosphatreihe hervorzugehen scheint, sondern auch bei höheren Werten (7,9) noch in der gewöhnlich verwendeten Nährlösung vor sich geht. Diese Verhältnisse werden zurzeit untersucht und sollen später gesondert eine eingehende Behandlung erfahren und mit den Ergebnissen Benecke's (1908, 1925) und Ulehla's (1924) verglichen werden. Auch bei Cosmarium ist der optimale Ertrag bei p_H 7,0 nur ein Bruchteil des Ertrages einer Nährlösung ohne puffernde Phosphate von gleichen p_H-Wert. Der Zusatz der Phosphate in einer Konzentration, wie sie zur Pufferung nötig ist, bewirkt also eine Schädigung.

Das Calcium ist ein notwendiger Bestandteil der Nährlösung für alle vier Vertreter, wenn es auch bei Kultur in böhmischen Kaliglasgefäßen nicht besonders zugesetzt werden muß. Für eine unbestimmte Spirogyra-Art hat bereits Molisch (1895) die Notwendigkeit des Calciums gefunden. Bei Verwendung des böhmischen Kaliglases geht die für das Wachstum notwendige Menge aus den Gefäßwänden in Lösung. Wo sich das kultivierte Material den Calciumbedarf in dieser Weise nicht decken kann, wie beispielsweise bei Verwendung von Jenaglas, erwies sich für Spirogyra die verwendete Nährlösung bei einem Zusatz von 2—5 Proz. gesättigter Calciumsulfatlösung nach der Sterilisation der Lösung als ausreichend.

sulfatlösung nach der Sterilisation der Lösung als ausreichend.

Über die Bedeutung des Eisens hat Uspenski (1924) eine eingehende Untersuchung angestellt (vgl. auch Reed (1924)). Er hat gefunden, daß die Kulturmißerfolge bei den dickfädigen Formen (Spirogyra crassa) offenbar nur darauf zurückzuführen sind, daß die für das Gedeihen notwendige Menge an in Lösung befindlichem Eisen in den Lösungen wie sie bis dahin verwendet worden sind, nicht vorgelegen hat. Um eine hinreichende Menge Eisen in der Lösung dauernd zu erhalten, verwendet er mit ausgezeichnetem Erfolg ein Gemisch von Eisen- und Natriumcitrat. Auch bei Spirogyra varians habe ich diese Methode versucht, ohne jedoch ein genügend klares Ergebnis zu erhalten. Der Ernteertrag und die Beschaffenheit der Zellen war schlechter als in der von mir sonst verwendeten Nährlösung. Bedeutend zuverlässiger und ergebnisreicher erwies

sich die von mir verwendete Nährlösung bei Zusatz von 0,0005 bis 0,00005 Proz. Ferrosulfat, wie die photographische Wiedergabe eines Teiles einer Kulturserie mit verschiedenen Zusätzen von Eisen (Taf. 10 Fig. 5) zeigt. Diese Lösung deckt sich mit der, die Uspenski (1924, 1925) für *Volvox* angewendet hat. Die Ergebnislosigkeit meines Versuches mit Eisencitrat beruht anscheinend nicht losigkeit meines Versuches mit Eisencitrat beruht anscheinend nicht nur darauf, daß ich mit einer etwas weniger empfindlichen Art als es *Spirogyra crassa* ist, experimentiert habe, sondern auch darauf, daß die von Uspenski angewandte Lösung einen anfänglichen p_H-Wert von ungefähr 7,3 besitzt, während der optimale p_H-Wert von *Spirogyra varians* um 6,0—6,2 herum liegt. Bei p_H 7,2 beginnt der p_H-Bereich der Copulation und daher wohl die Ergebnislosigkeit des Versuches mit *Spirogyra varians*, infolge Einsetzens der Copulation. Bei den in meinen Kulturen gegeberen Podingungen macht sieh auch schar mit Spirogyra varians, infolge Einsetzens der Copulation. Bei den in meinen Kulturen gegebenen Bedingungen macht sich auch schon beim makroskopischen Vergleich, ohne quantitative Feststellung, die Notwendigkeit einer genauen Bemessung der Eisenmenge auffallend bemerkbar, eine Erscheinung, auf die Uspenski zum erstenmal ausführlich hingewiesen hat. Die Prüfung der gleichen Versuchsanordnung an Mesotaenium, Cosmarium und Zygnema sp. ergab keinen sichtbaren Unterschied zwischen den einzelnen Konzentrationsstufen. Von den beiden Erstgenannten sind alle Kulturen bis auf die eisenlose Kontrollkultur üppig angegangen. Bei Zygnema erfolgt in allen Stufen dieser Lösung gleichartiger Fadenzerfall mit morphologischen Veränderungen. Auch hier anscheinend wegen der zu hohen p_H-Konzentration, da das Wachstumsoptimum dieser Alge unterhalb von p_H 6,9 liegt.

Da für eine ganze Reihe von Chlorophyceen an absoluten Reinkulturen nachgewiesen ist, daß sie ihren Kohlenstoffbedarf teilweise

Da für eine ganze Reihe von Chlorophyceen an absoluten Reinkulturen nachgewiesen ist, daß sie ihren Kohlenstoffbedarf teilweise oder gänzlich auch aus organischen Verbindungen decken können, war es schließlich von Interesse, zu untersuchen, inwieweit die nun in absoluter Reinheit vorliegenden vier Vertreter der Conjugaten zur Ausnützung organischer Kohlenstoffquellen befähigt sind. Es haben zwar Löw und Bokorny in zahlreichen Publikationen viele Stoffe besonders für Spirogyra genannt, die von dieser Alge als Kohlenstoffquelle benützt werden können. Aber die diesen Angaben zugrunde liegenden Versuche sind durchwegs mit Rohmaterial vorgenommen worden und damit unzuverlässig. Auf die Brauchbarkeit dieser Angaben ist von mir schon (1925) näher eingegangen worden. Schon beim genaueren Vergleich der Versuchsresultate Bokorny's mit Dunkelkulturen und kohlensäurefreien Kulturen wird man in der Skepsis noch weiter bestärkt, daß positive Resultate mit "kohlensäurefreien Lichtkulturen" nur deshalb erzielt wurden, weil die

verwendeten Spirogyren die von den mitanwesenden Bakterien abgeschiedene Kohlensäure im Licht assimiliert haben, während in den Dunkelversuchen, die durchwegs negativ ausgefallen waren, die Stärkebildung infolge Lichtmangels unterblieben war. Solange in derartigen Versuchen bakterienhaltiges Versuchsmaterial vorliegt, sind positive Resultate nur von Dunkelkulturen zuverlässig. Als Kriterium für die Brauchbarkeit eines Stoffes als Kohlenstoffquelle wurde von mir das Wachstum herangezogen, nicht aber, wie von früheren Autoren, die Bildung von Stärke. Die Stärkebildung wird zurzeit untersucht und später behandelt werden.

Meine Versuchsanordnung war in folgender Weise getroffen worden. Die Kulturen wurden in der gleichen Weise wie für die Untersuchung der Stickstoffquellen vorbereitet, nur wurde der kom-pletten Nährlösung der zu untersuchende Stoff in der in Tabelle IV und V verzeichneten Konzentration noch hinzugefügt. Es wurde also Mesotaenium, Cosmarium und Zygnema auf Filterpapier, Spirogyra in die Lösung selbst geimpft. Von den jeweils so vollkommen gleichartig vorbereiteten Eprouvettenkulturen wurden zwei im kohlensäurefreien Raum, zwei in kohlensäurehältiger Luft, beide bei der gleichen Lichtquelle, und zwei im Dunkeln bei der gleichen Zimmertemperatur untergebracht. Zur Erzielung des kohlensäurefreien Raumes wurde über die in einer Ebene angeordneten Kulturen eine große Glasglocke auf eine Glasplatte gesetzt und mit Luftpumpenfett abgedichtet. Die im eingeschlossenen Luftvolumen (ca. 8 Liter mit 18 Kulturen) vorhandene Kohlensäure wurde mit stark konzentrierter Kalilauge entfernt. Das Absorbens war in flachen Schalen in Mengen von 50—100 ccm verteilt und war zwecks Vergrößerung seiner Oberfläche an um schmale Zylinder gewickelte Filterpapierstreifen emporgesaugt worden. Um den Kohlensäureentzug wenigstens einigermaßen kontrollieren zu können, wurde in einer Eprouvette gleicher Größe wie die Kulturgefäße Phenolphtalein in einem geeigneten Gemisch von Natriumkarbonat und -bikarbonat untergebracht und mit den Kulturen unter der Glasglocke eingeschlossen. Die maximalste Rötung dieser Lösung, welche anzeigt, daß die Kohlensäureotension auf ein Minimum herabgedrückt ist, tritt erst in einigen Tagen ein Versucht wurden vorläufig die in der Tabelle IV und V zu-

Versucht wurden vorläufig die in der Tabelle IV und V zusammengestellten Stoffe. Von diesen erwiesen sich Glukose und etwas weniger ertragreich Rohrzucker nur bei *Mesotaenium* als brauchbare Kohlenstoffquellen. Kulturen mit diesen Zuckern zeigten sowohl im kohlensäurefreien Raum als auch im Dunkeln eine recht gute Entwicklung von Zellenmaterial, die natürlich einen geringeren

Tabelle IV.

Kulturversuche mit organischen Kohlenstoffquellen im kohlensäurefreien Raum; 300 Watt-Azoglühbirne in ca. 75 cm Entfernung; Versuchstemperatur 18—22°C; Eintragungen nach 30 Tagen: + Zuwachs, O kein Zuwachs, Dagestorbenes Material. Siehe dazu Tabelle V. Jeder Stoff immer mit zwei Eprouvettenkulturen geprüft. Die Dunkelkulturversuche ergaben das gleiche Resultat.

		Mesotaenium	Cosmarium	Zygnema	Spirogyra				
	Proz.	24./1.—25./2., 21./2.—28./3. 1924	14./1—13./2. 1925	14./1.—13./2. 1925	20./2.—19./3., 28./3—7./5. 1925				
Glukose Saccharose Fruktose Mannose Mannit Galaktose Dulzit Laktose	1 2 1 1 1 1 1	+ + + + + 0 0 0 0 0 0 0	0080800	00 0 00000	#00##000#				
Kontrollversuch Nährlösung allein		0	0	0	С				

Tabelle V.

Kontrollversuche bei Zutritt CO₂-haltiger Luft; 300 Watt-Glühbirne in ca. 75 cm Entfernung; Versuchstemperatur 18—22° C; Eintragungen nach 30 Tagen: + Zuwachs, ○ kein Zuwachs, ⊕ abgestorbenes Material. Siehe dazu Tabelle IV. Jeder Stoff immer mit zwei Eprouvettenkulturen geprüft.

		Mesotaenium	Cosmarium	Zygnema	Spirogyra	
	Proz.	24./1.—25./2., 21./2.—28 /3. 1924	14./1.—13./2. 1925	14./1.—13./2. 1925	20./2.—19./3., 28./3.—7./5. 1925	
Glukose Saccharose Fruktose Mannose Mannit Galaktose Dulzit	1 2 1 1 1 1	+++	+++	+++	+++ +++ Copulation	
Laktose	1	+	+++	\oplus	Copulation	
Die verwendete Nähr allein	+++	+++	+++	+++		

Ernteertrag als bei Zutritt von CO₂ und bei Beleuchtung ergaben. Kohlensäurefreie Kulturen zeigten ganzrandige, trocken aussehende, intensiv gefärbte, die Dunkelkulturen schleimige, grünlichgelbe Kolonien. Cosmarium, Zygnema und Spirogyra erwiesen sich bei Ver-

wendung der genannten Stoffe in bezug auf Kohlenstoff streng autotroph. Die von Bokorny mehrmals (zuletzt 1917) wiederholten Angaben, daß "Spirogyra" Glycerin und Saccharose als Kohlenstoffquelle auswerten kann, sind für meine Art in bezug auf die Vermehrung direkt widerlegt. Auch die weiteren Versuch an Mesotaenium mit Glykokoll, Asparagin, racem. Leucin, Calciumazetat, Calciumtartrat, Calciumlaktat sind negativ verlaufen. Die nähere Untersuchung dieser Frage, im besonderen die Stärkebildung ist zurzeit im Gange und wird später behandelt werden.

Zusammenfassung.

- 1. Es wird der Vorgang der Reinzüchtung von 5 Conjugaten, nämlich Mesotaenium caldariorum, Cosmarium Botrytis, Zygnema sp., Zygnema peliosporum und Spirogyra varians, beschrieben, der im wesentlichen darin bestand, daß vegetatives Zellenmaterial nach mehrmaligen Waschungen in sterilem, destilliertem Wasser im Agar eingeschlossen oder auf den Agar aufgelegt wurde.
- 2. Zur vollständigen Ernährung reichen anorganische Salze vollkommen aus. Bei Verwendung der Salzkombination: KNO₃ 0,02 Proz., K₂HPO₄ 0,002 Proz., MgSO₄ 0,001 Proz., FeSO₄ 0,00002 Proz., CaSO₄ 2 Proz. einer gesättigten Lösung, ist Zellenmaterial der oben genannten Arten von morphologisch und physiologisch natürlicher Beschaffenheit kultivierbar.
- 3. Wenn auch diese Salzkombination für alle genannten Arten geeignet ist, so ist immerhin ein gewisser Unterschied im ernährungsphysiologischen Verhalten des Genannten zu beobachten, das hauptsächlich darin besteht, daß der günstige Konzentrationsbereich der einzelnen Nährsalze und der Wasserstoffionen ein verschieden weiter ist und sein Optimum an verschiedenen Stellen liegt.
- 4. Die bisherige Untersuchung der Möglichkeit von Ernährung mit organischen Kohlenstoffverbindungen ergab, daß nur *Mesotaenium* Zucker und zwar Glukose und in geringem Maße Saccharose verwenden kann. Die übrigen Arten sind, soweit es sich nach den wenigen Versuchen behaupten läßt, in bezug auf den Kohlenstoff autotroph.
- 5. Von organischen Stickstoffverbindungen vermag Mesotaenium nur Glykokoll und Asparagin, nicht aber Leuzin, Spirogyra nur Asparagin auszunützen. Cosmarium und Zygnema sp. erweisen sich bei Anwendung dieser Stoffe auch in dieser Beziehung als autotroph.

Pflanzenphysiologisches Institut der deutschen Universität Prag II, Viničná 3a.

Literaturverzeichnis.

- Andreesen, A. (1909): Beiträge z. Kenntnis d. Physiologie d. Desmidiaceen. Flora Bd. 99. Benecke, W. (1898): Über die Kulturbedingungen einiger Algen. Bot. Ztg. Bd. 56.
- (1908): Über die Ursachen der Periodizität im Auftreten der Algen usw.
 Internat. Rev. d. ges. Hydrobiologie u. Hydrographie Bd. 1.
- (1925): Zur Frage nach den Bedingungen der Conjugation bei der Gattung Spirogyra. Flora, Goebel-Festschrift.
- BOKORNY, Th. (1896): Einige Versuche über die Stickstoffernährung grüner Pflanzen. Chemikerzeitung.
- (1917): Organische Kohlenstoffernährung der Pflanzen. Bakteriolog. Zentralbl. Abt. II Bd. 47. Dort weitere Literaturangaben über diese Frage.
- Borge, O. (1913): Zygnemales. in: Pascher's Süßwasserflora Deutschlands usw. Jena. Czurda, V. (1924): Über die Kultur von Conjugaten. "Lotos", Prag.
- (1924): Zur Kenntnis der Geschlechtsverhältnisse bei Spirogyra. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. 42.
- (1925): Zur Kenntnis der Copulationsvorgänge bei Spirogyra. Arch. f. Prot. Bd. 51. Fritsch, F. E. (1922): The moisture relations of terrestrial algae I. Somme general observations and experiments. Annals of Bot. Vol. 36.
- FRITSCH, F. E. and HAINES, F. M. (1923): II. The changes during exposure to drought and treatment with hypertonic solutions. Ibid. Vol. 37.
- Gerasimoff (1902): Die Abhängigkeit der Größe der Zelle von ihrer Menge an Kernmasse. Zeitschr. f. allgem. Physiol. Bd. 1.
- (1904): Zur Physiologie der Zelle. Bull. soc. imp. Nat. Moscou.
- Gillis, J. (1923): Zetmeelvorming bij Spirogyra onder den invloed van organischen Stoffen. Naturwet. Tijdschrift Bd. 5. War mir bisher nicht zugänglich.
- GLADE, R. (1914): Zur Kenntnis der Gattung Cylindrospermum. Cohn's Beitr. Bd. 12. Hansgirg, A. (1886): Algenflora von Böhmen. Prag.
- HARDER, R. (1917): Ernährungsphys. Untersuch. an Cyanophyceen. Z. f. Bot. Bd. 9. Hemleben, H. (1922): Über den Copulationsakt und die Geschlechtsverhältnisse der Zygnemales. Bot. Arch. Bd. 2.
- Klebs, G. (1888): Beiträge zur Physiologie der Pflanzenzelle. Tübinger Unters.
- (1897): Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena. Kostka, G. (1924): Praktische Anleitung zur Kultur der Microorganismen. Stuttgart.
- KÜSTER, E. (1921): Kultur der Microorganismen. 3. Aufl. Leipzig.
- Löwe, O. und Вокоrny, Th. (1887): Chemisch-physiologische Studien über Algen. Jahrb. f. prakt. Chemie, N. F. Bd. 36.
- Maertens, H. (1914): Das Wachstum von Blaualgen in mineralischen Nährlösungen. Сонм's Beiträge Bd. 12.
- Molisch, H. (1896): Die Ernährung der Algen. Sitz.-Ber. d. Akad. d. Wiss. Wien Bd. 105. Plaetzer, H. (1917): Untersuchungen über die Assimilation und Atmung von Wasserpflanzen. Verh. d. phys.-med. Ges. Würzburg N. F. Bd. 45.
- Pringsheim, E. G. (1912): Kulturversuche mit chlorophyllführenden Microorganismen. Cohn's Beiträge z. Biol. d. Pflanzen Bd. 11.
- (1914): Zur Physiologie der Schizophyceen. Соныs's Beitr. z. Biol. d. Pflanzen Bd. 12.
- (1918): Die Kultur der Desmidiaceen. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. 36.
- (1921): Algenkultur. Abderhald. Handb. d. biol. Arbeitsmeth. Abt. XI, 2.
- Pringsheim, H. und Müller, O. (1922): Zur Physiologie der "Polyamylosen" I. Zeitschr. f. phys. Chemie Bd. 118.

- Reed, H. S. and Haas, A. R. C. (1924): Iron supply in a nutrient medium. Bot. Gaz. Vol. 77.
- RICHTER, O. (1911): Die Ernährung der Algen. Monographie zur Intern. Revue d. ges. Hydrobiol. u. Hydrographie Bd. 2. Dort weitere Literaturangaben.
- Rosa, K. (1924): Přehled českých řas šroubatkovitých časop. národ. musea, Prag. Sakamura, T. (1922): Über die Selbstvergiftung der Spirogyren in destilliertem Wasser. The Bot. Magazine Tokyo.
- Schramm, J. R. (1914): Some pure culture methods in the algae. Ann. of the Miss. bot. Garden Bd. I.
- Schneider, H.-Zimmermann, A. (1922): Botanische Microtechnik. Jena.
- Schreiber, E. (1925): Zur Kenntnis der Physiologie und Sexualität höherer Volvocales. Zeitschr. f. Bot. Bd. 17.
- STRASBURGER, E. (1921): Botan. Praktikum, VI. Aufl. Jena.
- ÜLEHLA, VI. (1923): Über CO₂- und p_H-Regulation des Süßwassers durch einige Süßwasseralgen. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. 41.
- (1923): Über den Einfluß der Wasserstoffionen auf einige niedere Pflanzen (tschechisch). Studia Mendeliana, Brünn.
- Uspenski, E. E. (1924): Contributions to the study of the action of different quantities of iron. Scientific-technical departement of the supreme council of nat. economy, Moskau (russisch).
- USPENSKI, E. E. und USPENSKAJA. W. J. (1925): Reinkultur und ungeschlechtliche Fortpflanzung d. Volvox minor usw. Zeitschr. f. Bot. Bd. 17.
- Treboux, O. (1904): Zur Stickstoffernährung der grünen Pflanzen. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. 22.
- (1905): Organische Säuren als Kohlenstoffquelle bei Algen. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. 23.
- West, W. and West, G. S. (1904-1912): British Desmidiaceae. London.

Berichtigung

zu V. Czurda, Die Reinkultur von Conjugaten.

Bei einer Prüfung des kultivierten Algenmaterials mittels Ausstriches auf den Objektträger, Fixierung durch Erhitzen und Färbung mittels Fuchsinlösung ergab sich, daß in einigen der jüngsten Stammkulturen von Cosmarium Botrytis, Zygnema sp. und Spirogyra varians, deren Kulturmaterial durch 12 Monate auf Grund der kulturellen Kontrolle als rein angesehen wurden, doch kleine Bakteriengruppen vorkommen. Bei den beiden letztgenannten finden sich die lebhaft beweglichen Keime in der dünnen Flüssigkeitslamelle zwischen der Agaroberfläche und den Fäden, bei Cosmarium liegen die Bakterien in kleinen, in Schleim eingehüllten Gruppen in der Gallerte der Alge. Da die beim Fortwachsen der Fäden auf der blanken Agaroberfläche zurückbleibenden Keime, wohl infolge ungünstiger Ernährungsbedingungen, nicht zur Kolonienbildung gelangen, bleiben sie bei der üblichen mikroskopischen Kontrolle unbemerkt. Da

sich aber auch in Bouillon und in anderen Nährsubstraten mit organischen Substanzen, wie Zucker, Aminosäuren usw., keine Bakterienentwicklung bemerkbar gemacht hatte, auch dann nicht, wenn ihr Vorhandensein mittels Färbung nachgewiesen war, so dürfte es sich um Bakterien mit besonderem Stoffwechsel handeln. Für deren Nachweis sind demnach die bisherigen biologischen Prüfungsmethoden unzureichend. Die Vernachlässigung dieser Möglichkeit hat den Irrtum bedingt. Infolge des Druckabschlusses konnte diese unerwartete Tatsache im Text selbst leider nicht mehr berücksichtigt werden. Inwieweit die ernährungsphysiologischen Ergebnisse bei Ausschaltung dieser Keime eine Änderung erfahren werden, soll, falls möglich, geprüft werden. Von meinen Conjugatenkulturen erwiesen sich auch mit der obengenannten Färbemethode geprüft die Kulturen von Mesotaenium caldariorum, Zygnema peliosporum und Cosmarium impressulum Elfv., das während der Drucklegung rein gezüchtet worden ist, als bakterienrein.

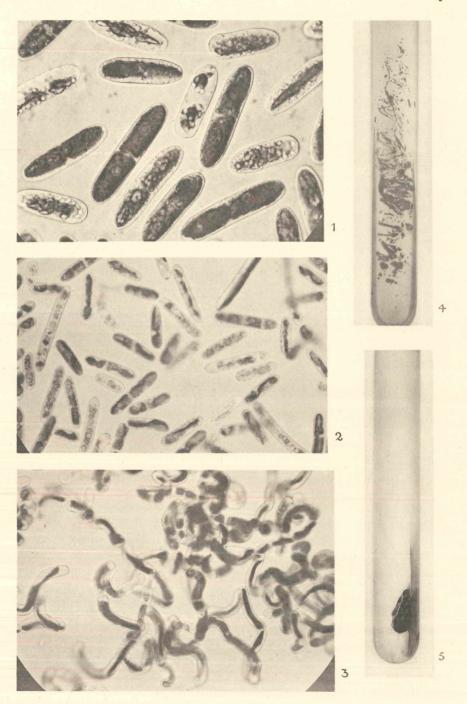
Tafelerklärung.

Tafel 9.

- Fig. 1. Mesotaenium caldariorum. Zellenmaterial aus 40 tägiger Agarkultur (Stammkultur). Zeiss Homog. Imm. 90, Zeiss Projekt. Ocul. 4.
- Fig. 2. Dasselbe. Zellenmaterial erwachsen auf Filterpapier; Ammonsulfat als Stickstoffquelle, Calciumkarbonat zur Bindung der frei werdenden Säure; Zeiss Obj. 40, Projekt. Ocul. 4.
- Fig. 3. Dasselbe. Ein mit dem vorhergehenden gleichaltes Zellenmaterial erwachsen auf Filterpapier. Ammonsulfat als Stickstoffquelle, aber ohne Zusatz von Calciumkarbonat. Gleich stark vergrößert wie die vorhergehende Aufnahme.
- Fig. 4. Dasselbe. Eine Agarkultur nach 42 Tagen; Asparagin als Stickstoffquelle.
 - Fig. 5. Cosmarium Botrytis. 60 Tage alte Agarkultur.

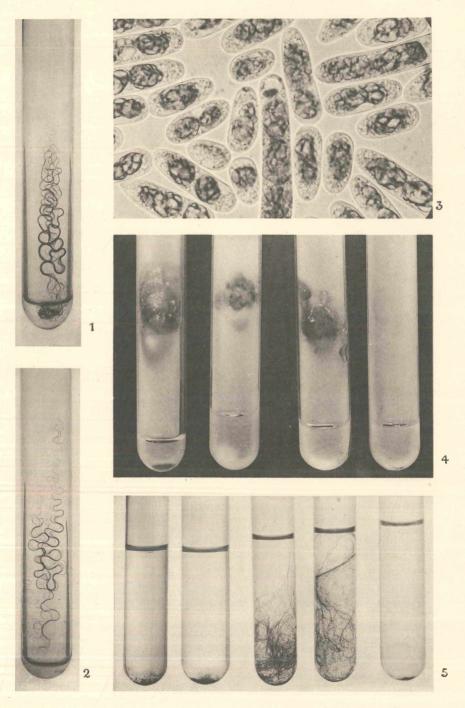
Tafel 10.

- Fig. 1. Zygnema sp. 5 Tage alte Agarkultur.
- Fig. 2. Spirogyra varians. 5 Tage alte Agarkultur.
- Fig. 3. Mesotaenium caldariorum. Zellenmaterial aus einer 49 Tage alten Dunkelkultur auf 1 proz. Glukoseagar. Vergrößerung wie in Fig. 1 der Taf. 1.
- Fig. 4. Cosmarium Botrytis. Ein Teil der Versuchsserie mit verschiedenen Stickstoffquellen und zwar von links nach rechts: Kaliumnitrat, Ammonsulfat Calciumnitrat, Glykokoll. Filterpapier als Unterlage. Kulturdauer vom 5./12. 1924 bis 6./1. 1925, also 32 Tage.
- Fig. 5. Spirogyra varians. Ein Teil der Versuchsreihe mit Lösungen verschiedener Ferrosulfatkonzentrationen und zwar von links nach rechts; 0,05, 0,005, 0,0005, 0,00005, und 0 Proz. Kulturdauer vom 5/2, bis 27/3, 1925, also 50 Tage.



Czurda.

Lichtdruck von J. B. Obernetter, München. Verlag von Gustav Fischer in Jena.



Czurda.

Lichtdruck von J. B. Obernetter, München. Verlag von Gustav Fischer in Jena.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Archiv für Protistenkunde

Jahr/Year: 1926

Band/Volume: 53 1926

Autor(en)/Author(s): Czurda [Denk] Viktor

Artikel/Article: Die Reinkultur von Conjugaten 125-242